

211 / Ilmu Peternakan

LAPORAN AKHIR PENELITIAN HIBAH BERSAING



**PENGEMBANGAN MARKA MOLEKULER BERDASARKAN GEN GH,
GHR, DAN IGF1 PADA ITIK PITALAH DAN ITIK LOKAL
PAYAKUMBUH PLASMA NUTFAH SUMATERA BARAT**

TIM PENGUSUL

Dr. Ir. YURNALIS, M.SC, 0011055402 (Ketua)

Ir. SABRINA, MP, 0001096004 (Anggota)

Dr. Ir. HUSMAINI, MP, 0013056302 (Anggota)

UNIVERSITAS ANDALAS

NOVEMBER 2016

HALAMAN PENGESAHAN

Judul

: PENGEMBANGAN MARKA MOLEKULER
BERDASARKAN GEN GH, GHR DAN IGF1 PADA
ITIK PITALAH DAN ITIK LOKAL PAYAKUMBUH
PLASMA NUTFAH SUMATERA BARAT

Peneliti/Pelaksana

Nama Lengkap : Dr. YURNALIS M.Sc.
Perguruan Tinggi : Universitas Andalas
NIDN : 0011055402
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Peternakan
Nomor HP : 08126628212
Alamat surel (e-mail) : yurnalisunand@yahoo.com

Anggota (1)

Nama Lengkap : Ir. SABRINA MP.
NIDN : 0001096004
Perguruan Tinggi : Universitas Andalas

Anggota (2)

Nama Lengkap : Dr. Ir. HUSMAINI MP.
NIDN : 0013056302
Perguruan Tinggi : Universitas Andalas

Institusi Mitra (jika ada)

Nama Institusi Mitra

: -

Alamat

: -

Penanggung Jawab

: -

Tahun Pelaksanaan

: Tahun ke 2 dari rencana 3 tahun

Biaya Tahun Berjalan

: Rp 50.000.000,00

Biaya Keseluruhan

: Rp 225.000.000,00



Mengetahui,
Dekan Fakultas Peternakan

(Prof. Dr. Ir. H. James Hellyward, MS)
NIP/NIK 196107161986031005

Padang, 25 - 11 - 2016
Ketua,

(Dr. YURNALIS M.Sc.)
NIP/NIK 195405111983031002



Menyetujui,
Ketua LPPM Unand

(Dr. Ing. Ir. Uyung Gatot S. Dinata, MT)
NIP/NIK 196607091992031003

PRAKATA

Alhamdulillah penelitian dengan judul “Pengembangan Marka Molekuler Berdasarkan Gen Gh, Ghr, Dan Igfl Pada Itik Pitalah Dan Itik Lokal Payakumbuh Plasma Nutfah Sumatera Barat” telah dapat diselesai sebagian.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kepada Universitas Andalas yang telah memfasilitasi sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan. Demikian juga kepada Lembaga Penelitian Universitas Andalas serta Dekan Fakultas Perternakan Universitas Andalas yang telah memfasilitasi sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

Penulis menyadari laporan penelitian masih jauh dari sempurna, untuk itu kritik dan dan saran demi kesempurnaan laporan penelitian ini sangat diharapkan.

Terakhir penulis berharap laporan ini bisa bermanfaat bagi pembaca

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	ii
PRAKATA	iii
DAFTAR ISI	iv
I. PENDAHULUAN	1
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
III. METODA PENELITIAN	9
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	15
DAFTAR PUSTAKA	25

BAB 1. PENDAHULUAN

a. Latar Belakang

Ketergantungan Indonesia terhadap ternak import sangat tinggi yang disebabkan konsumsi tidak sebanding dengan produksi. Upaya untuk memenuhi kebutuhan dalam negeri telah mengarah kepada pengurusan dan pemotongan ternak produktif, sehingga pertumbuhan menjadi negatif. Tantangan kedepan adalah bagaimana mengurangi import ternak dengan memacu peningkatan reproduksi dan pertumbuhan ternak lokal

Itik merupakan ternak unggas penghasil daging yang cukup potensial di samping ayam. Menurut Ditjen Peternakan (2013) populasi itik di Sumatera Barat terus meningkat dengan tingkat pertumbuhan itik 7%, populasi sementara mencapai 1.201.892 ekor pada tahun 2012. Sumbangan produksi daging itik pada tahun tersebut mencapai 703 ton pertahun atau 3 % dari produksi daging unggas nasional. Kelebihan ternak itik dibandingkan unggas lainnya adalah harga produknya lebih mahal, lebih stabil dan lebih tahan terhadap penyakit sehingga resiko pemeliharaannya tidak banyak

Itik lokal mempunyai beberapa keunggulan dibanding itik hibrida yaitu adaptif dengan lingkungan dan makanan yang berkualitas rendah serta produktivitasnya yang cukup bagus. Beberapa itik lokal Sumatera Barat yang sudah teridentifikasi adalah itik Pitalah, itik Bayang, itik Kamang dan itik Payakumbuh. Peran ternak itik dalam meningkatkan pendapatan masyarakat pedesaan sangat besar (Husmaini, et al., 2012^a, Husmaini et al. 2012^b). Meningkatnya jumlah permintaan itik pedaging menyebabkan banyak peternak mulai beralih membesarkan itik pejantan untuk dijadikan itik pedaging. Sebagai calon plasma nutfah itik local Payakumbuh dan itik Pitalah perlu dikembangkan. Seleksi harus dilakukan supaya itik yang dipelihara kualitasnya bisa ditingkatkan.

Kemajuan teknologi dibidang molekuler pada awal tahun 1990 telah memainkan peran utama dalam mengkarakterisasi keragaman genetik dengan cepat dan murah. Karakterisasi keragaman genetik yang berhubungan dengan sifat sifat yang bernilai ekonomis seperti pertumbuhan dapat dilakukan melalui analisis mendalam pada gen strukturalnya atau bagian lain yang berperan penting untuk pertumbuhan ternak.

Gen-gen yang diduga memiliki pengaruh pada pertumbuhan ternak diantaranya adalah Gen *Growth Hormone* (GH), GHR, GHRL, dan IGF1 telah digunakan sebagai gen kandidat

dalam mencari keterkaitan antara genotipe dengan fenotipe pada ternak ((Moradian, *et al.*, 2013). Sekuens hormon gen GH pada ternak Itik memiliki panjang 2162 pasang basa (pb) (Orian *et al.*, 1988). Gen ini terdiri atas 5 *exon* dan 4 *intron* yang sama pada spesies mamalia yang berbeda. *Exon* adalah pengkode protein sementara *intron* merupakan *spacer internal* antara pengkode protein, pada saat transkripsi bagian *intron* hilang (*splicing*), sehingga proses translasi berjalan dengan baik (Barta *et al.*, 2001).

Keragaman gen ditunjukkan dengan adanya polimorfisme pada situs situs tertentu yang mungkin saja terkait dengan ekspresi gen pada sifat produksi. Jika polimorfisme gen tersebut terkait dengan sifat produksi, hal ini tentu dapat dijadikan sebagai alat *Marker Assisted Selection* (MAS). Keterkaitan polimorfisme gen dengan sifat produksi, dapat dimanfaatkan untuk mempelajari keragaman genetik dan struktur populasi ternak dan melihat hubungan kekerabatan berdasarkan jarak genetik (*genetic distance*) (Liron *et al.*, 2002 ; Sumantri *et al.*, 2008 ; Dagong, 2012; Abas *et al.*, 2013).

b. Tujuan Khusus

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui pertumbuhan dan sifat produksi dari itik Pitalah dan Itik Lokal payakumbuh.
2. Mendapatkan keragaman gen GH, GHR, dan IGF1 pada itik Pitalah dan Itik Lokal payakumbuh.
3. Mengetahui hubungan keragaman gen GH, GHR, dan IGF1 dengan pertumbuhan dan sifat-sifat produksi itik.

c. Urgensi (Keutamaan Penelitian)

Marka genetik yang dihasilkan penelitian ini dapat digunakan bagi industri peternakan itik, pemerintah maupun peternak dalam melakukan seleksi dini terhadap itik Pitalah dan Itik local Payakumbuh sehingga akan dihasilkan ternak itik yang pertumbuhannya cepat/bobot badan tinggi atau produksi telur yang tinggi, sehingga swasembada daging bisa dicapai. Industri peternakan Indonesia tidak seharusnya bergantung pada ternak import, tapi dapat memanfaatkan ternak lokal yang sudah beradaptasi baik dengan kondisi lingkungan tropis seperti itik local. Itik local mampu beradaptasi dengan lingkungan dan makanan yang berkualitas rendah. Itik Pitalah dan itik local Payakumbuh adalah dua dari empat itik local Sumatera Barat Itik Pitalah sebagai suatu plasma nutfah dan itik Lokal

Payakumbuh sebagai suat calon plasma nutfah Indonesia perlu dikembangkan. Dengan berkembangnya industri ternak itik akan dapat meningkatkan perekonomian daerah, apalagi pada saat ini angka pengangguran di pedesaan cukup tinggi, dengan penyerapan tenaga kerja oleh industri peternakan akan menurunkan angka pengangguran dan sekaligus dapat mengentaskan kemiskinan di pedesaan.

Komitmen pemerintah baik daerah maupun pusat sangat diharapkan dalam penyediaan anggaran bagi pengembangan ternak lokal yang telah beradaptasi baik dengan kondisi lokal. Pengembangan ternak lokal akan memberikan efek bola salju terhadap pengembangan perekonomian masyarakat pedesaan. Karena di pedesaan banyak sekali lahan tidur yang berpotensi besar untuk pengembangan ternak, sehingga secara berangsur ketergantungan kita terhadap ternak impor bisa dikurangi. Pada pemerintah daerah akan direkomendasikan pemanfaatan marka genetis yang diperoleh dalam penyusunan proram pemuliaan/peningkatan ternak itik.

d. Temuan yang ditargetkan

Pada tahun I.

Target yang diharapkan dari penelitian ini pada tahun pertama adalah :

1. Diperoleh data pertumbuhan dan produksi telur itik pitalah dan itik lokal Payakumbuh
2. Diperoleh data keragaman gen GH dan GHR pada itik itik pitalah dan itik lokal Payakumbuh
3. Dihasilkan 1 publikasi pada jurnal Internasional Journal Poultry Science

Pada Tahun ke-2.

Target yang diharapkan pada tahun ke-2 adalah.

1. Diperoleh data keragaman gen IGF1 dan marka molekuler terkait pertumbuhan pada itik yang bisa diterapkan pada peternak itik dalam melakukan seleksi..
2. Dihasilkan 1 publikasi pada jurnal terakreditasi yaitu Media Peternakan IPB atau Internasional Journal Poultry Science.
3. Pengurusan Paten

Pada Tahun ke-3.

Target yang diharapkan pada tahun ke-3 adalah.

1. Diperoleh marka molekuler terkait pertumbuhan berdasarkan gen IGF1 pada itik yang bisa diterapkan pada peternak itik dalam melakukan seleksi..
2. Diperolehnya itik-itik sebagai calon bibit yang mempunyai pertumbuhan yang lebih tinggi.
3. Dihasilkan 1 publikasi pada jurnal terakreditasi yaitu Internasional Journal Poultry Science.

e. Penerapannya Dalam Rangka Menunjang Pembangunan Dan Pengembangan Ipteks-Sosbud

Penerapan hasil penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi dalam pembangunan dan pengembangan ipteks-sosbud yaitu :

- a. Penerapan metode seleksi berdasarkan marka molekuler yang akan meningkatkan pertumbuhan dan produksi telur itik, sehingga akan dihasilkan ternak yang lebih unggul yang tentu saja akan meningkatkan **keuntungan peternak. Keadaan ini menyebabkan kesejahteraan masyarakat lebih baik. Metode ini dapat dipatenkan**
- b. Metoda seleksi berdasarkan marka moleuler akan lebih cepat menghasilkan ternak yang unggul dibandingkan metode seleksi biasa sehingga biaya yang dibutuhkan untuk menghasilkan ternak yang lebih unggul lebih rendah.
- c. Pengembangan ilmu manajemen ternak unggas, khususnya dalam manajemen pemuliaan ternak.
- d. Menyumbangkan publikasi ilmiah yang treakreditasi dan jurnal internasional

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

Itik termasuk unggas air (waterfowl) bersama-sama dengan angsa. Ternak ini bersifat lebih *aquatic* daripada angsa. Sifat khas lainnya dari itik *omnivorous* (pemakan segala), yaitu memakan bahan makanan yang bersumber dari tumbuhan hewan, seperti biji-bijian, rumput-rumputan, umbi-umbian, ikan bekicot dan keong. Melalui proses domestikasi yang telah terjadi sejak zaman Mesopotamia, itik liar (*Anas boscha*) kemudian berubah menjadi ternak piaraan. Nenek-moyangnya yang sampai saat ini masih banyak tersebar di seluruh dunia ialah burung Belibis (Mliwis) atau disebut juga *Wild mallard* (Srigandono, 1980).

Hormon Pertumbuhan.

Growth hormone (GH) adalah hormone polypeptide dari *pituitary* yang memainkan peran sentral pada pertumbuhan hewan dan metabolisme (Harvey *et al.*, 1995). Organ target utama GH adalah hati, dimana GH mengatur ekspresi beberapa gen. Beberapa penelitian mengenai ekspresi gen memperlihatkan GH mengatur ekspresi *insulin-like growth factor-I* (IGF-I) (Mathews *et al.*, 1986), *IGF binding protein* (IGFBP)-1 (Seneviratne *et al.*, 1990), IGFBP-3 (Lemmey *et al.*, 1997), *acid labile subunit* (ALS) dari *IGF binding complex* (Ooi *et al.*, 1997), *serine protease inhibitor* (*Spi*) 2-1 (Yoon *et al.*, 1990), *suppressors of cytokine signaling* (SOCS) gens (Tollet-Egnell *et al.*, 1999), *phosphoenol pyruvate kinase C* dan *glucose transporter GLUT-2* (Valera *et al.*, 1993).

Seperti diketahui GH secara dramatis mempengaruhi kerangka tubuh, hormone ini juga mempengaruhi secara luas proses-proses metabolisme. Hormon GH diketahui pada itik mempengaruhi reproduksi betina dan produksi susu (Hull and Harvey, 2001), metabolisme sodium dan air (Johannsson *et al.* 2002), meningkatkan pertumbuhan jaringan lunak pada kaki dan tangan, dan mempengaruhi fungsi jantung (Bollano *et al.*, 2000). Pengaturan utama dari GH dalam merangsang pertumbuhan tubuh adalah merangsang liver dan jaringan lain untuk mengsekresikan IGF-I. IGF-I merangsang *proliperasi* dari chondrocytes (*cartilage cells*), yang menghasilkan pertumbuhan tulang. Hormone pertumbuhan kelihatan mempunyai efek langsung pada pertumbuhan tulang dalam merangsang diferensiasi dari chondrocytes. IGF-I juga memegang peran kunci pada pertumbuhan otot, yang merangsang diferensiasi dan proliferasi

dari myoblasts. Juga merangsang penyerapan asam amino dan sintesa protein pada otot dan jaringan lain.

Efek metabolik GH diantaranya adalah meningkatkan sintesis protein, meningkatkan penggunaan lemak sebagai sumber energi dan menurunkan pemakaian glukosa (Guyton dan Hall, 1996). Adanya efek tersebut maka apabila sekresi hormone pertumbuhan meningkat maka akan menyebabkan penurunan kandungan lemak tubuh dan meningkatkan kadar protein daging. Peningkatan hormone pertumbuhan akan diikuti oleh efek metaboliknya sehingga kadar lemak daging rendah dan tinggi protein. Pemberian hormone pertumbuhan secara *in vivo* akan menyebabkan peningkatan asam lemak bebas dan oksidasi asam lemak dalam hati (Murray *et al.*, 1996). Frohman (1995) juga melaporkan bahwa hormone pertumbuhan dapat meningkatkan mobilisasi asam lemak dari jaringan adiposa akibat meningkatnya proses lipolisis.

2.3. Gen GH, GHR, dan IGF1.

Salah satu gen yang diduga dan memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan (bentuk dan ukuran) dari semua ternak adalah gen hormon pertumbuhan (*growth hormone gene*) pada *bovine* (bGH). Gen hormon pertumbuhan pada itik berperan penting dalam proses biologis seperti perkembangan kelenjar susu, laktasi, pertumbuhan dan mengatur metabolisme (Etherton, 1998).

Eleswarapu and Jiang, 2005 menyatakan GH dapat mengatur ekspresi mRNA HNF-3 γ dan lima LETFs (*liver-enriched transcription factors*) lainnya termasuk HNF-3 β , HNF-6, HNF-4 α , C/EBP α , dan DBP pada hati sapi. Semua LETF ini berpotensi memediasi pengaturan gen lain oleh GH pada hati sedangkan efek GH baru akan timbul jika GH terikat pada GHR. Sehingga gen GH dan GHR adalah kandidat gen penting yang dapat digunakan sebagai penanda genetik untuk sifat pertumbuhan, karkas, dan produksi susu pada ternak (Ge *et al.*, 2003).

Pertumbuhan dan sifat karkas, yang dikontrol oleh banyak gen, adalah sifat yang penting secara ekonomi pada ternak. Seleksi ternak dengan pertumbuhan tinggi dan komposisi karkas yang baik sangat penting artinya bagi breeder dan consumer. Teknologi terakhir telah

memungkinkan para ahli untuk meningkatkan ketepatan dan efisiensi seleksi dengan menerapkan penanda genetik melalui *marker-assisted selection* (MAS), sehingga polimorfisme genetik (marker loci) yang berhubungan dengan sifat tertentu yang diinginkan adalah sangat berguna (Zhao *et al.*, 2004).

Produksi telur dan pertumbuhan pada ayam dipengaruhi oleh banyak gen seperti gen GH (Kühnlein *et al.*, 1997; Kansaku *et al.*, 2003) GH receptor: Feng *et al.*, 1997; Insulin-like growth factor I Nagaraja *et al.*, 2000). Gen Gh pada itik mempunyai panjang 4350 bp yang terdiri atas 5 exon dan 4 intron (GenBank: AB158760). GH pada itik mempunyai keragaman yang tinggi, Hiyama *et al.*, (2012) mendapatkan 8 keragaman pada daerah promotor gen GH pada itik Mianmar.. Kansanku *et al.*, 2008, juga melaporkan adanya keragaman pada daerah promotor gen GH pada itik Pekin.

Melalui MAS dimungkinkannya suatu peningkatan mutu genetik yang lebih berarti yaitu 15-30% (Kashi *et al.*, 1990) dan bahkan diharapkan sampai 44,7-99,5% tergantung kepada model yang digunakan (Edward and Page, 1994). Namun demikian, penerapan dengan menggunakan pendekatan MAS memerlukan suatu indentifikasi penciri gen kandidat (*candidate* gen). Menurut Park (2004), gen kandidat adalah gen-gen yang sebelumnya telah diidentifikasi dan diketahui fungsi biokimianya dan alur fisiologi dari sifat yang diinginkan.

PCR-RFLP

Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) adalah suatu metode analisis lanjutan dari produk PCR. Metode PCR memanfaatkan perbedaan pola pemotongan enzim restriksi atau enzim pemotong yang berbeda-beda pada setiap mikroorganisme (Orita *et al.*, 1989).

Teknik RFLP yang dikombinasikan dengan teknik PCR telah secara luas digunakan untuk mendapat variasi pada setiap daerah atau lokasi DNA, baik pada daerah yang bersifat penyandi (*coding region*) pada genom maupun pada daerah yang tidak penyandi atau daerah *non-coding* (Dehnavi *et al.*, 2012 ; Sutikno *et al.*, 2011). *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) yang dikembangkan digunakan untuk mengetahui adanya polimorfisme sekuen DNA. Adanya. Selanjutnya Gupta *et al.*, (2002) menyatakan kelebihan dari RFLP adalah dapat mendeteksi sifat kodominan, artinya dapat membedakan antara yang

homozigot dan heterozigot. Selain itu kelebihan yang lain adalah diharapkan didapatkan homologi polimorfik.

Penciri molekuler DNA *restriction fragmen length polymorphism* (RFLP) memiliki tingkat polimorfisme yang tinggi dan secara luas telah digunakan untuk mendapatkan gambaran populasi genetik dan juga untuk mengidentifikasi gen-gen yang mengkode sifat-sifat penting (Montaldo & Herrera, 1998). Teknik ini semakin intensif digunakan sebagai penciri genetik karena memiliki beberapa keunggulan diantaranya yaitu perbanyakan DNA secara cepat dengan memakai *polymerase chain reaction* (PCR) dan polimorfisme fragmennya dilakukan dengan enzim restriksi, sehingga mampu mengidentifikasi genotipe secara jelas.

Dalam analisis RFLP, sampel DNA dipotong menjadi potongan-potongan oleh enzim restriksi dan fragmen restriksi yang dihasilkan dipisahkan sesuai dengan panjangnya dengan gel elektroforesis. RFLP digunakan sebagai marker molekuler karena spesifik untuk setiap tunggal atau kombinasi dari enzim restriksi

Penelitian Tahun Pertama.

Penelitian ini akan dilaksanakan di Peternakan rakyat di Kota Payakumbuh dan Unit Pelaksanaan Teknis (UPT) dan Laboratorium Biotechnology Fakultas Peternakan Universitas Andalas Padang. Penelitian direncanakan terdiri dari 2 percobaan.

Penelitian 1. Penelitian lapangan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan dan berat badan itik sampai berumur 10 minggu. Penelitian ini menggunakan 200 ekor anak itik (100 jantan dan 100 ekor betina). Itik ditimbang bobot badannya setiap minggu dan ditempatkan dalam 5 buah kandang boks berukuran 120 cm x 150 cm x 75 cm. Setiap kandang ditempatkan 40 ekor itik. Kandang dilengkapi dengan tempat makan dan minum dan pemanas listrik sebagai indukan. Bobot badan ditimbang setiap minggu untuk melihat perkembangan badan itik.

Penelitian tahap 2. Penelitian Laboratorium

Penelitian tahap 2 ini merupakan penelitian laboratorium yang dilaksanakan setelah penelitian lapangan selesai. Pada penelitian ini diambil 200 sampel darah itik yang dipelihara yang akan dihibrid dengan gen *GH*, *GHR*, dan *IGF1*.

BAB 3. METODE PENELITIAN

Penelitian ini direncanakan selama 3 tahun. **Tahun pertama** bertujuan untuk mendapatkan data pertumbuhan (berat umur 1 sampai 8 minggu) dan untuk mengidentifikasi keragaman sekuen gen GH, dan GHR pada itik Pitalah dan Itik Lokal Payakumbuh. **Penelitian tahun kedua** bertujuan untuk mengidentifikasi keragaman gen IGF1 dan mendapatkan marka molekuler berdasarkan gen GH dan GHR terkait sifat pertumbuhan tinggi. **Penelitian tahun ketiga** bertujuan untuk mendapatkan marka molekuler berdasarkan gen IGF1 dan calon bibit itik yang berpotensi mempunyai pertumbuhan yang tinggi yang diseleksi berdasarkan marka molekuler yang diperoleh pada tahun kedua. Penelitian lapangan akan dilaksanakan di Peternakan itik rahyat di kota Payakumbuh dan di unit Pelaksanaan Teknis (UPT) dan Laboratorium Biotechnology Fakultas Peternakan Universitas Andalas Padang dan penelitian laboratorium akan dilaksanakan pada Laboratorium Biotechnology Fakultas Peternakan Universitas Andalas Padang. Bagan Penelitian dapat dilihat pada gambar berikut:

Penelitian Tahun Pertama.

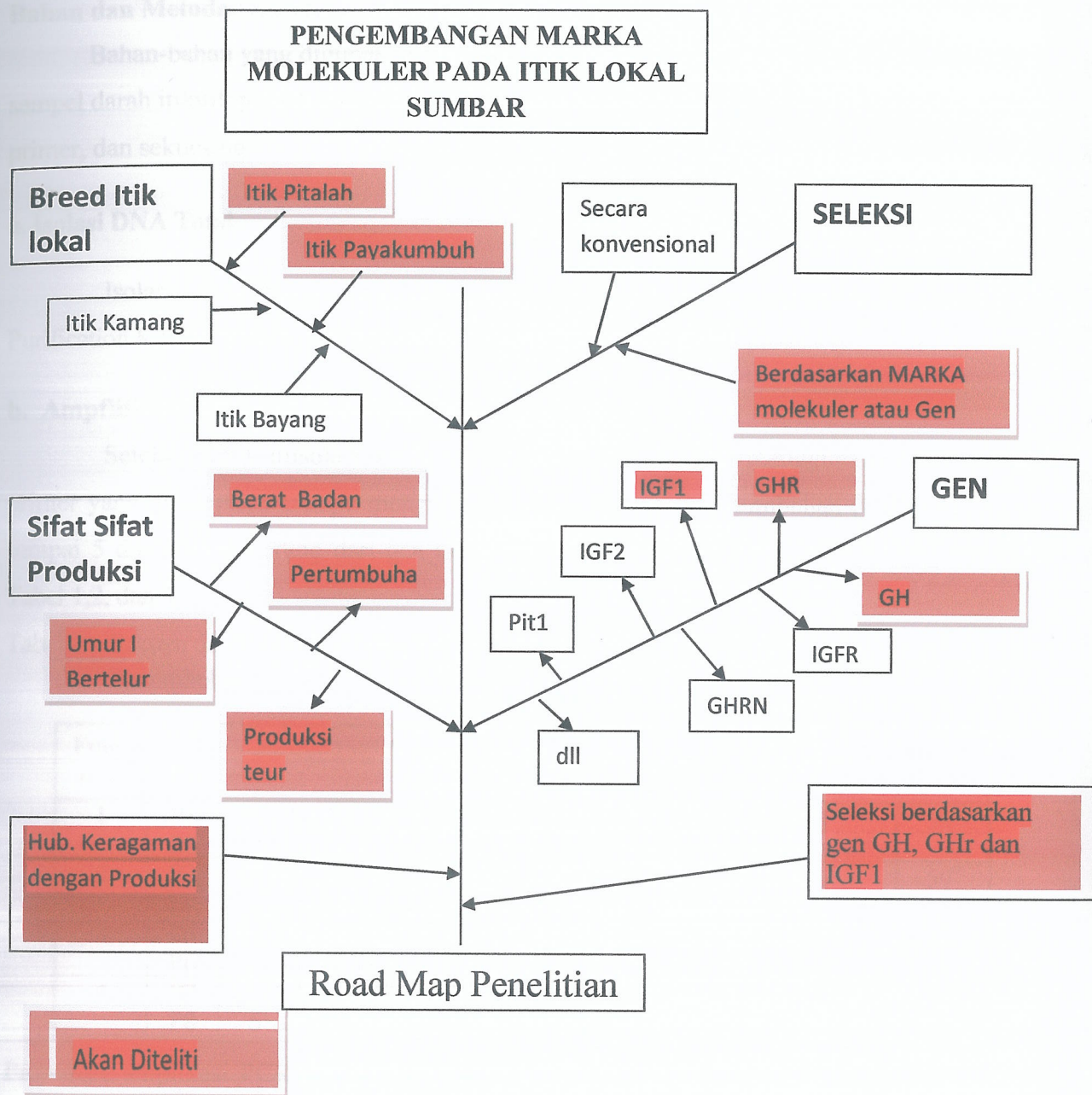
Penelitian ini akan dilaksanakan di Peternakan rahyat di Kota Payakumbuh dan Unit Pelaksanaan Teknis (UPT) dan Laboratorium Biotechnology Fakultas Peternakan Universitas Andalas Padang. Penelitian direncanakan terdiri dari 2 percobaan

Penelitian 1. Penelitian lapangan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan dan berat badan itik sampai berumur 10 minggu. Penelitian ini menggunakan 200 ekor anak itik (100 jantan dan 100 ekor betina). Itik ditimbang bobot badannya setiap minggu dan ditempatkan dalam 5 buah kandang boks berukuran 120 cm x 150 cm x 75 cm. Setiap kandang ditempatkan 40 ekor itik. Kandang dilengkapi dengan tempat makan dan minum dan pemanas listrik sebagai indukan. Bobot badan ditimbang setiap minggu untuk melihat pertumbuhan badan itik.

Penelitian tahap 2. Penelitian Laboratorium

Penelitian tahap 2 ini merupakan penelitian laboratorium yang direncanakan dilakukan 16 minggu setelah penelitian tahap pertama berjalan. Pada penelitian ini diambil 200 sampel darah itik yang dipelihara yang akan dilihat keragaman gen GH, GHR, dan IGF1.



Analisis variasi Sekuen

Tempat dan Waktu

Penelitian laboratorium untuk isolasi DNA, PCR, dan PCR-RLFP akan dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Peternakan Universitas Andalas. Sekuensing dilakukan di Singapore.

Bahan dan Metoda

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian laboratorium antara lain adalah 200 sampel darah itikitik pitalah dan itik local Payakumbuh, pereaksi isolasi DNA, pereaksi PCR, primer, dan sekuesing.

a. Isolasi DNA Total

Isolasi DNA Genomik dari darah itik dilakukan dengan menggunakan Genomik DNA Purification Kit dari Promega dengan prosedur yang disarankan oleh produsen.

b. Amplifikasi Fragmen Gen GH, GHR, dan IGF1

Setelah DNA diisolasi maka akan diampifikasi dengan menggunakan 16 pasang primer yang diharapkan mampu mengamplifikasi gen hormon pertumbuhan (GH) dari exon 1 sampai 5 dan daerah koding dari gen GHR dan IGF1. Primer pencari tersebut disajikan pada Tabel 1,2, dan 3.

Tabel 1. Sekuen dan Posisi Oligonukleotida Yang Digunakan Untuk PCR Gen Hormon Pertumbuhan .

Fragmen	Primer	Sekuen Primer	Panjang (bp)	Tm
1	P1	5'- AACAGTTGCCATTACCAGCC -3'	248	59°
	P2	5'-GAGCCACCTTTTCTCCAAGC -3'	(exon1)	
2	P3	5'-ACTGGAGGGCTAAGATCGTG -3'	386	59°
	P4	5'-AAAAGTGGACTGGGTGGGAA -3'	(exon2)	
3	P5	5'- GGACAGCCTGAGGAAAGAGT -3'	834	59°
	P6	5'- GTGGAAGGTGGGGAGACTTC-3'	(exon 3 & 4)	
4	P7	5'- AAGAGAGCGTTACTGACCCC-3'	641	59°
	P8	5'-GCCTTAGGTCTGCTTAGGGA -3'	(exon5)	

Prosedure amplikasi PCR menggunakan procedure yang digunakan sebagai berikut sebagai berikut : 50 µl campuran reaksi yang terdiri dari 25 µl master mix, 2 µl DNA genom, 2 µl primer dan 19 µl nuclease freewater. Amplikasi dilakukan dengan denaturasi awal 94°C selama 2 menit, amplikasi dijalankan 35 siklus yang terdiri dari 94°C selama 45 detik, 60°C selama 30 detik, dan 72°C selama 80 detik, dan diikuti dengan 5 menit pada temperature 72°C. Untuk melihat hasil amplikasi dilakukan elektroforesis dengan agarose 1%, diwarnai dengan Ethidium Bromide dan dievaluasi dengan menggunakan UV transiluminator. Pada gel akan terlihat pita-pita yang terbentuk pada setiap alur sumur yang berisi sampel DNA produk PCR.

Pada sumur DNA *ladder* akan muncul pita-pita mulai dari paling bawah dengan ukuran terkecil sampai terbesar kearah atas. Penentuan ukuran (pb) setiap fragmen GH yang terbentuk pada gel akrilamid dilakukan dengan membandingkan posisi pita yang terbentuk dengan posisi pita DNA *ladder*. DNA yang terekpresi didokumentasi dengan kamera UV.

Tabel 2. Sekuen dan Posisi Oligonukleotida Yang Digunakan Untuk PCR pada Gen Reseptor Hormon Pertumbuhan

Fragm	Primer	Sekuen Primer	Panjang Fragme	Tm
1	P7	5'-TG TAGCTTGTTGGGTGGTTATT -3'	519	59 ⁰
	P8	5'- TCAAATCCAAATCCCCTCCCA -3' (exon5)		
2	P9	5'- TGGAGAGCATGTTGGTAGCA -3'	557	59 ⁰
	P10	5'- GTGTGCCAGCTTTCTTGACA -3' (exon6)		
3	P11	5'- ACAACAAGGCCAGTAGCTA -3'	479	59 ⁰
	P12	5'- CATGTGGTAGGCTGAATCATCA -3' (exon7)		
4	P13	5'- TGGCAGAGAAGGTGGAAGTT -3'	281	59 ⁰
	P14	5'- AGAGGATGGACAGCAACAGT -3' (exon8)		
5	P15	5'-ATGATTTCAGCAAGGCAGGC-3'	360	59/58
	P16	5'-TTGTTCTGCTAGGGACAACAA-3' (exon9)		
6	P17	5'- GCAGTTATTAGATCAGCCGCA -3'	691	59 ⁰
	P18	5'- CTTGGATTCTGCCCTGGTG 3' (exon1)		
7	P19	5'- ATTGCTGTGACTTCCCAGGA -3'	829	59 ⁰
	P20	5'- GCAATTACGCTCCTTGGATG -3' (exon1)		

Tabel 3. Sekuen dan Posisi Oligonukleotida Yang Digunakan Untuk PCR pada Gen IGF1

	Pri mer	Sekuen Primer	Panjang fragmen	Anne aling
1	P1	5'- TGTTATTTGTCACCATGCCCA -3'	460(80-539)	58
	P2	5'- CCAGAAGCAGACAATACACAGT-3'	exon1	
2	P3	5'- CTGCCTGTGAATGTGAACCA -3'	4551-5041	58
	P4	5'- ACTTGGCAGCTTGGTTTGAT -3'	exon 2	
3	P5	5'- CCAGGAATATCTTTGGAAGCTGT -	40141-40573	59
	P6	5'- TGCTACGTTACCAGCCTTGA -3'	exon 3	
4	P7	5'- TGCCTAGAAGAATGGGGAAATG -3'	50676-51345	58
	P8	5'- ACAAGGCTGATGAATGACTCC -3'	exon 4	
5	P9	5'- ACAGAACATTTTAACCAGCCCA -3'	51144-51839	58
	P10	5'- GGCCAGACCCTTTCATATAACA -3'	exon4	

C. Gel Purifikasi

Jika fragmen hasil amplikasi PCR tidak spesifik, gel yang berisikan fragmen target diisolasi dari gel agarose dengan teknik pemotongan secara hati-hati dan dilakukan dibawah sinar UV. Pemotongan dengan menggunakan scalpel steril dengan cara mengambil bagian yang mengandung fragmen yang dikehendaki. Fragmen tersebut dimasukkan kedalam tabung effendorf 1,5 ml steril, dielusi dan selanjutnya dipurifikasi menggunakan Gel Purifikasi Kit dari Fementas dengan procedure yang disarankan oleh produsen.

D. Sekuensing

Produk PCR hasil amplikasi digunakan untuk sekuensing nucleotide, menggunakan metode Sanger *et al.* (1977) dengan prosedur yang disarankan Sambrook dan Russel (2001). Hasil sekuen yang diperoleh dilihat keragamannya dan dibandingkan dengan sekuen gen GH, GHR, dan IGF itik lain yang ada gen bank menggunakan program DNA Star. Dari hasil perbandingan akan didapatkan kesamaan sekuen, juga akan terindikasi posisi ada tidaknya mutasi atau terjadinya indel pada gen GH dan GHR itik lokal Payakumbuh dan itik Pitalah.

Penelitian Tahun ke-2.

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Biotechnology Fakultas Peternakan Universitas Andalas Padang. Akan dilihat keragaman gen IGF1. Dari analisis keragaman sekuen pada tahun pertama akan diketahui posisi keragaman yang diperoleh pada gen GH dan GHR dan analisis keragaman gen IGF1. Dari posisi keragaman dan mutasi/indel yang terjadi akan dirancang primer baru untuk mengamplifikasi daerah tersebut, dan akan dicari enzyme restriksi yang mengenali mutasi/indel yang terjadi. Kemudian seluruh sampel akan diaplikasi menggunakan primer baru dan akan dilanjutkan dengan PCR-RFLP.

Penelitian Tahun ke-3.

Penelitian ini akan dilakukan di Lapangan dan laboratorium Biotechnology Fakultas Peternakan Universitas Andalas Padang. Dari analisis keragaman PCR-RFLP pada tahun kedua akan diperoleh marka molekuler yang dapat digunakan pada seleksi dini pada itik Pitalah dan Itik Lokal Payakumbuh berdasarkan gen GH dan GHR. Dari hasil keragaman gen IGF1 yang diperoleh pada tahun kedua akan dicari marka molekuler terkait pertumbuhan tinggi.

Analisis Data

Analisis descriptive untuk melihat keragaman sekuen bGH dilakukan menurut procedure SNPstat (Sole *et al.*, 2006) sebagai berikut. Frekuensi genotip dihitung berdasarkan jumlah alel suatu genotip dibagi dengan jumlah sample :

$$F_1 = \frac{\sum x_i}{N} ; x_i = \text{genotip yang diamati}$$

Frekuensi alel dihitung dengan menjumlah semua alel dibagi dengan 2N

$$F_2 = \frac{\sum x_i}{2N} ; x_i = \text{alel yang diamati}$$

Hardy-Weinberg Equilibrium:

$$HW = \sum \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

Keragaman PCR-RFLP yang diperoleh akan dianalisis dengan linier model sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + \delta_i + G_j + E_{ijk}$$

Keterangan :

Y_{ijk} = Paramter yang diamati

G_j = pengaruh genotipe ke-j

μ = nilai tengah umum δ_i = pengaruh sex (i= 1,2)

E_{ijk} = pengaruh galat perlakuan

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Rata-rata Berat Badan Itik Umur 1 Sampai 8 Minggu.

Rataan berat badan, standar deviasi dan koefesien keragaman itik umur sehari dan umur 1 samai 10 minggu disajikan pada Tabel 4.1. berikut.

Tabel 4.1. Rata-rata berat badan itik umur 1 hari dan 1 miggu sampai 9 minggu.

	Itik Sikumbang Janti			Itik Pitalah		
	Jantan	Betina	Jantan + Betina	Jantan	Betina	Jantan+ Betina
1 hari	54,281 ± 14,4138	46,775± 11,263	50,1111± 13,2096	46,545± 4,906	47,400± 5,523	46,9241± 5,17333
1 minggu	114,313 ± 29,0866	89,350± 22,156	100,444± 28,1969	106,136± 20,806	97,600± 20,373	102,354± 20,9236
2 minggu	192,969 ± 64,9051	170,275± 58,845	180,361± 62,213	188,591± 64,346	216,343± 63,310	200,886± 64,9781
3 minggu	315,656 ± 112,858	284,000± 106,190	298,069± 109,573	301,341± 133,811	327,571± 90,409	312,962± 116,644
4 minggu	436,500 ± 144,297	426,050± 145,430	430,694± 144	440,682± 176,360	490,886± 117,724	462,924± 154,329
5 minggu	594,125 ± 162,407	585,650± 186,988	589,417± 175,328	642,045± 216, 697	670,600± 131,969	654,696± 183,527
6 minggu	739,375± 188,66	734,775± 200,731	736,819± 194,11	720,477± 216,861	740,800± 173,929	729,481± 198,03
7 minggu	753,219± 212,845	809,275± 214,034	784,361± 213,847	768,864± 208,876	849,629± 195,557	804,646± 205,796
8 minggu	807,344± 173,319	785,950± 225,742	795,458± 203,033	893,795± 202,543	869,714± 173,273	883,127± 189,335

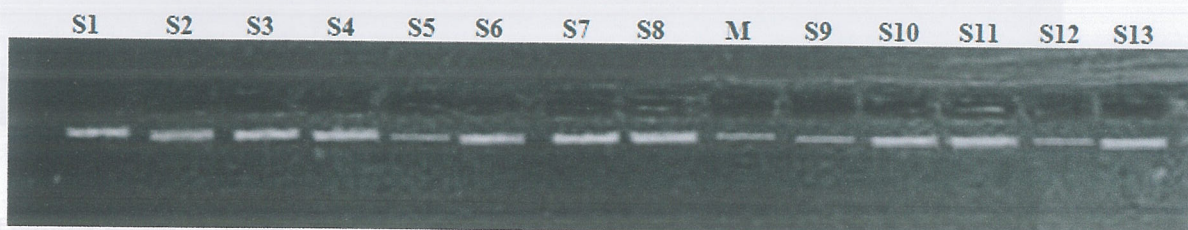
Dari Tabel 4.1. dapat dilihat rata-rata berat badan awal itik sikumbang janti umur 1 hari adalah $50,11 \pm 13,21$ kg dengan koefesien karagaman 26,36% dan rata-rata berat badan sikumbang janti umur 8 minggu adalah $795,458 \pm 203,033$ kg dengan koefesien keragaman 25,52%. Sedangkan rata berat badan awal itik pitalah adalah $46,92 \pm 5,17$ kg dengan koefesien keragaman 11,02% dan rata-rata berat badan itik Pitalah umur 8 minggu adalah $883,127 \pm 189,335$ kg dengan koefesien keragaman 21,44%. Dari data berat badan ini terlihat sangat variatif sekali yang terlihat dari besarnya koefesien keragaman sampel ($> 20,366\%$)

sehingga sangat terbuka peluang untuk melakukan seleksi pada kedua itik terkait bobot badan. Secara umum itik pitilah lebih berat dari itik sikumbang janti (kecuali pada umur 1 hari kedua itik beratnya hampir sama) yang menunjukkan itik pitilah lebih baik dikembangkan sebagai itik pedaging dibandingkan dengan itik sikumbang janti.

4.2. Isolasi DNA Total

Isolasi DNA genomik dari Darah itik dilakukan dengan menggunakan protokol Genomik DNA Purification Kit dari Promega (Promega -USA). Hasil isolasi DNA 140 sampel darah itik menunjukkan kualitas dan kuantitas DNA yang cukup baik. Kualitas DNA hasil isolasi diestimasi dengan dibandingkan dengan DNA standar (λ DNA 50 ng/ μ l) menggunakan gel elektroforesis, kemudian divisualisasikan dengan UV transiluminator. Salah satu hasil isolasi DNA dari darah Itik dapat dilihat pada Gambar 4.1. Hasil dokumentasi tersebut menunjukkan intensitas fragmen yang terbentuk sangat bervariasi. Misalnya sampel S1, S2, S3, S4, S10, S13 mempunyai intensitas sekitar 2 x λ DNA, sampel S7, S8 dan S11 mempunyai intensitas 2 x λ DNA, sampel S5 dan S9 mempunyai intensitas 1 x λ DNA.

Gambar 4.1. juga memperlihatkan bahwa konsentrasi DNA dari darah itik yang dihasilkan jauh lebih tinggi dari λ DNA, yaitu 1 – 3 kali λ DNA artinya konsentrasi DNA darah itik yang diperoleh diperkirakan sekitar 25 – 75 ng/ μ l. Konsentrasi hasil isolasi DNA yang rendah (50 ng/ μ l) mungkin disebabkan oleh jumlah sampel darah yang digunakan juga sedikit yaitu 100 μ l sedangkan sampel lainnya 300 μ l.



Keterangan : M = marker 25 ng/ μ l, S1-S12 = sampel individu

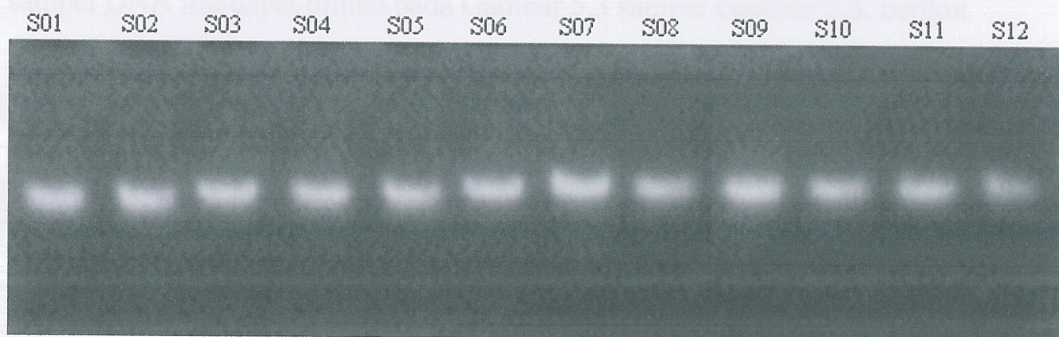
Gambar 4.1. Elektroforesis DNA total hasil isolasi menggunakan Genomik DNA Purification Kit dari Promega

Semua sampel dapat diisolasi DNA-nya dengan kualitas dan dengan konsentrasi DNA cukup tinggi yaitu antara 50 – 400 ng/ μ l. Konsentrasi DNA yang dihasilkan sangat tergantung pada lisis inti sel. Jika inti sel dapat dilisis dengan baik maka konsentrasi DNA yang dihasilkan

cukup tinggi dan kualitas DNA nya akan bagus. Jika inti sel tidak dilisis dengan sempurna maka DNA yang dihasilkan konsentrasinya sangat rendah dan kadang-kadang masih tercampur dengan bahan lain. Dengan hasil ini membuktikan Kit Genomik DNA Purification dari Promega cukup handal untuk mengisolasi DNA genomik itik.

DNA genom yang dihasilkan dapat digunakan untuk kegiatan amplifikasi selanjutnya. Sebelum melakukan amplifikasi langkah yang harus dilakukan adalah pengenceran untuk memperoleh konsentrasi DNA yang sama yaitu 10 ng/ μ l. Untuk memperoleh DNA genom dengan konsentrasi 10 ng/ μ l, DNA diencerkan dengan TE 1X atau ddH₂O PCR grade sesuai dengan perhitungan yang dilakukan. Secara lengkap konsentrasi DNA sampel dan konsentrasi yang diinginkan dapat dilihat pada (Lampiran 6). Untuk memastikan konsentrasi DNA yang telah diencerkan telah sama, dilakukan proses elektroforesis dengan agarose 1% pada buffer 0,5 x TBE menggunakan tegangan 100 volt selama 30 menit.

Hasil elektroforesis didokumentasikan dengan menggunakan UV transilluminator. Dari hasil elektroforesis (Gambar 5.2) terlihat konsentrasi DNA telah sama yaitu 10 ng/ μ l langkah selanjutnya adalah tahap amplifikasi menggunakan mesin PCR dengan menggunakan empat pasang primer P1,P2, sampai dengan P8. Dan 10 pasang primer untuk mengamplifikasi gen GHR.



Keterangan : M = marker 25 ng/ μ l, S1-S12= sampel individu

Gambar 4. 2. Elektroforesis hasil penyamaan konsentrasi sampel (10 ng/ μ l)

4.3. Amplifikasi Fragmen Gen Hormon Pertumbuhan

Fragmen gen GH diamplifikasi dengan menggunakan 4 pasang primer yang akan mengamplifikasi gen hormon pertumbuhan (GH) dari exon 1 sampai exon 5 dan. Primer penciri

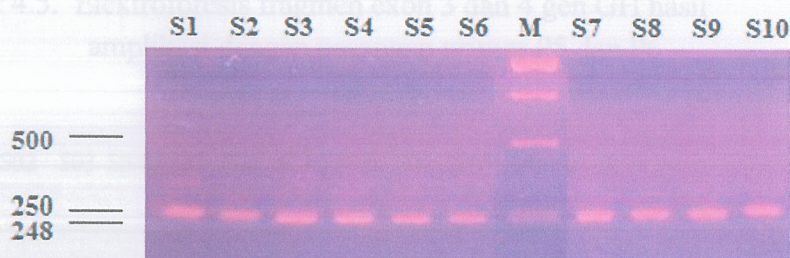
yang digunakan, panjang fragmen serta temperatur annealing yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1.

Prosedure amplikasi PCR menggunakan procedure yang digunakan sebagai berikut sebagai berikut : 50 μ l campuran reaksi yang terdiri dari 25 μ l master mix, 2 μ l DNA genom, 2 μ l primer dan 19 μ l nuclease freewater. Amplikasi dilakukan dengan denaturasi awal 94°C selama 2 menit, amplikasi dijalankan 35 siklus yang terdiri dari 94°C selama 45 detik, 60°C selama 60 detik, dan 72°C selama 80 detik, dan diikuti dengan 5 menit pada temperature 72°C. Untuk melihat hasil amplikasi dilakukan elektroforesis dengan agarose 1%, diwarnai dengan Ethidium Bromide dan dievaluasi dengan menggunakan UV transluminator.

Sedangkan Gen GHR diamplifikasi dengan menggunakan 10 pasang primer. Primer yang digunakan, panjang fragmen, dan temperatur annealing yang digunakan dapat dilihat pada tabel 2.

4.4. Amplifikasi Gen GH dengan 4 Pasang Primer (P1 s/d P8)

Amplikasi fragmen exon 1 sampai exon 4 gen GH dengan 4 pasang primer (P1 s/d P8) dilakukan pada temperature annealing 60°C. Sebagai contoh elektroforesis hasil amplifikasi 10 sampel DNA itik dapat dilihat pada Gambar 5.3 sampai Gambar 5.6. berikut

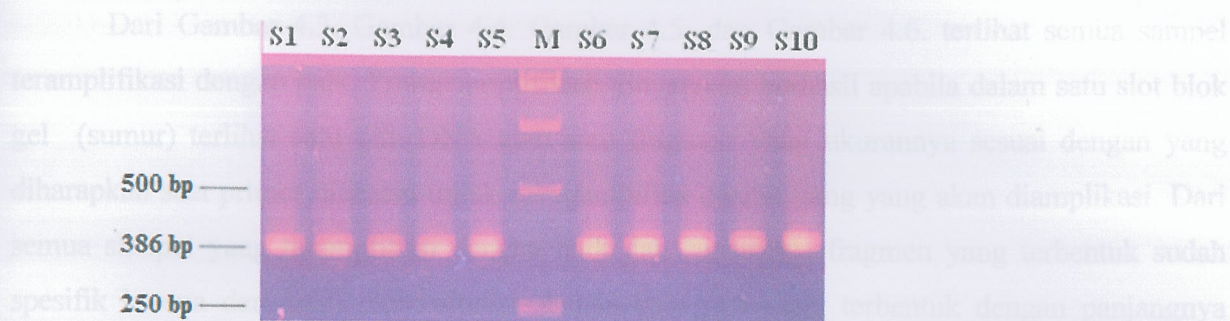


Keterangan : M = marker, S1 – S16 = sampel individu

Gambar 5.3. Elektroforesis fragmen exon 1 gen GH hasil amplikasi dengan pasangan primer P1 dan P2

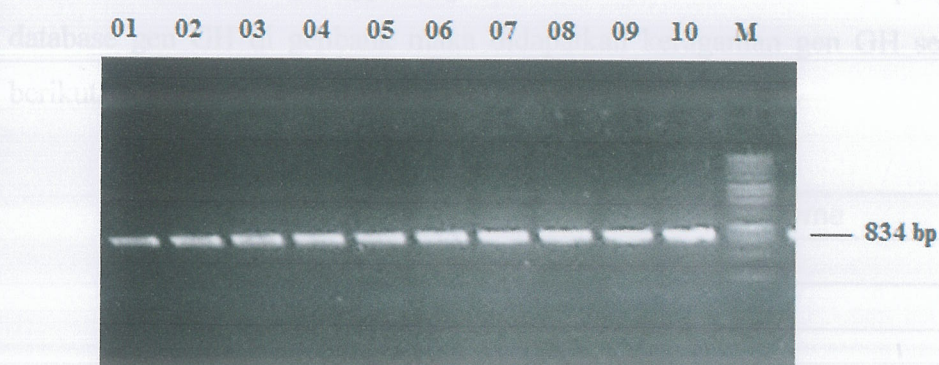
Keterangan : M = marker, S1 – S10 = sampel individu

Gambar 4.6. Elektroforesis fragmen exon 5 gen GH hasil amplikasi dengan pasangan primer P7 dan P8



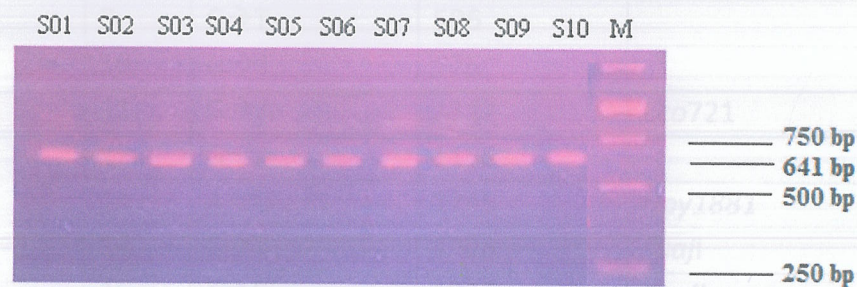
Keterangan : M = marker, S1 – S10 = sampel individu

Gambar 4.4. Elektroforesis fragmen exon 2 gen GH hasil amplikasi dengan pasangan primer P3 dan P4



Keterangan : M = marker, S1 – S10 = sampel individu

Gambar 4.5. Elektroforesis fragmen exon 3 dan 4 gen GH hasil amplikasi dengan pasangan primer P5 dan P6



Keterangan : M = marker, S1 – S10 = sampel individu

Gambar 4.6. Elektroforesis fragmen exon 5 gen GH hasil amplikasi dengan pasangan primer P7 dan P8

Dari Gambar 4.3, Gambar 4.4. Gambar 4.5. dan Gambar 4.6. terlihat semua sampel teramplifikasi dengan baik. Proses amplifikasi dinyatakan berhasil apabila dalam satu slot blok gel (sumur) terlihat satu pita DNA atau satu fragmen yang ukurannya sesuai dengan yang diharapkan saat primer didesain untuk mengampliksi daerah yang akan diamplifikasi. Dari semua sampel yang teramplifikasi dengan baik dan sepertinya fragmen yang terbentuk sudah spesifik karena dari hasil elektroforesis hanya satu pita yang terbentuk dengan panjangnya sesuai dengan yang diharapkan (248 bp, 386 bp, 834 bp, dan 641 bp). Untuk melihat urutan nukleotida fragmen yang diamplifikasi, sampel selanjutnya disekuensing dengan mesin sequencer di 1st Base Singapore. Hasil sekuen jika dibandingkan sekuen database bGH di genbank memiliki tingkat kesamaan yang tinggi dengan sekuen 97-100 %. Dari hasil penjajaran dengan sekuen database gen GH di genbank maka didapatkan keragaman gen GH seperti bpada Tabel 5.4 berikut.

Tabel 4.4. Keragaman sekuen gen GH

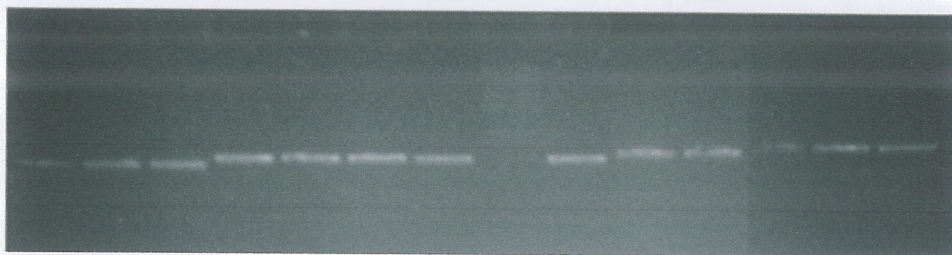
No	Mutasi	Posis	Enzyme
1	G→A	-142	
2	C→T	-62	
3	A→G	160	
4	T→G	250	<i>BdsI</i>
5	A→G	264	
6	A→G	293	
7	C→T	308	
8	TT→AA	350	<i>MbolI</i>
9	C→T	506	
10	G→T	775	
11	G→A	1117	<i>Eco721</i>
12	G→A	1155	
13	A→G	1245	<i>Hpy1881</i>
14	C→T	1308	<i>BsajI</i>
15	T→C	1353	<i>AocII</i>
16	G→A	1423	<i>Cac81</i>
17	T→C	1424	<i>Ajnl</i>
18	G→A	1786	
19	A→G	2524	
20	T→C	2973	

4.5. Amplifikasi Gen GHR dengan 8 Pasang Primer (P6 s/d P20)

Sedangkan Gen GHR diamplifikasi dengan menggunakan 10 pasang primer. Primer yang digunakan, panjang fragmen, dan temperatur annealing yang digunakan dapat dilihat pada tabel 4.5 berikut.

Tabel 4.5. Sekuen dan Posisi Oligonukleotida Yang Digunakan Untuk PCR pada Gen Reseptor Hormon Pertumbuhan

S1 S2 S3 S4 S5 S6 S7 M S8 S9 S10 S11 S12 S13

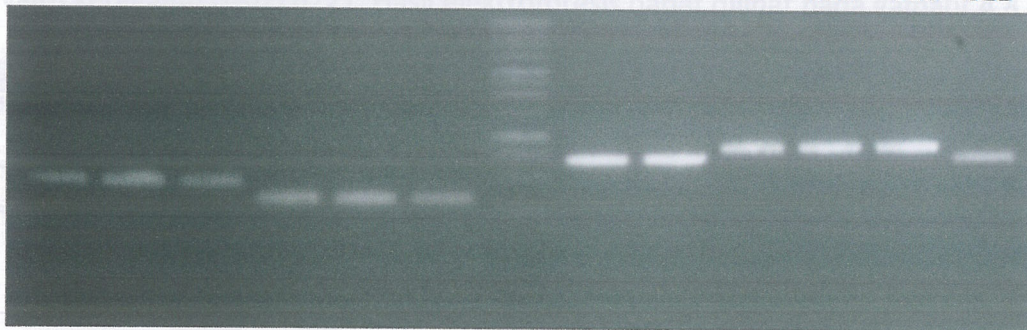


Keterangan : Primer P1 dan P2 : S1, S2, S3: Primer P3 dan P4 : S4,S5,S6

M = marker

Gambar 4.7. Elektroforesis fragmen gen GHR hasil amplikasi dengan pasangan primer P1, P2 dan P3, P4

S1 S2 S3 S4 S5 S6 M S7 S8 S9 S10 S11 S12



Keterangan : P11 dan P12 : S1, S2, S3. P13 dan P14 : S4, S5, dan S6

P17P18 : S7, S8, S12 P19 dan P20: S9,S10, S11

Gambar 4.7. Elektroforesis Amplifikasi menggunakan Pasangan primer P11, P12; P14,P15; P17,P18; P19,P20

Tabel 4.6. Keragaman sekuen Gen GHR

No.	Daerah	Mutasi	Position
2	Exon 6	G→A	177
3	Exon 7	T→C	254
4	Exon 8	T→C	229
5	Exon 10	A→G	-9
6	Exon 10	C→T	152
7	Exon 10	C→T	241
8	Exon 10	G→A	483
9	Exon 10	A→T	495
10	Exon10	C→T	522
11	Exon10	C→A	550
12	Exon10	T→G	602
13	Exon10	A→G	750
14	Exon10	Insersi G	786
15	Exon10	Insersi C	845
17	Exon10	G→A	879

Dari hasil sequencing terdapat 37 keragaman (20 pada gen GH dan 17 pada gene GHR). Pada tahun kedua ini belum semua keragaman diverifikasi dengan PCR-RFLP. Dari yang telah diverifikasi ada suatu keragaman yang nyata hubungannya terhadap pertumbuhan itik, yaitu keragaman GH/Eco721. Hasil elektroforesis dapat dilihat pada gambar 4.8 berikut

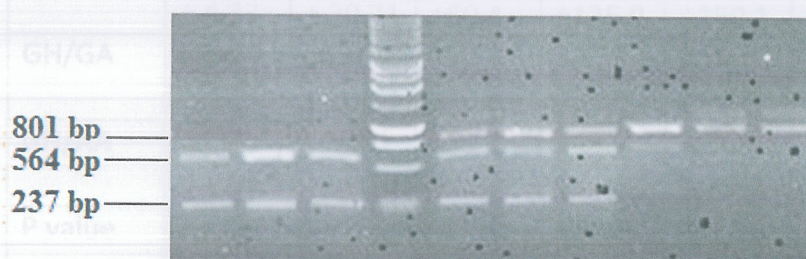


Fig. 4.8. GH/Eco721 genotype identification (line 1, 2, 3, genotype GH/GG, line 4 molecular marker 250, 500, 750, 1000, .. bp, line 5,6,7 genotype GH/GA – 801, 564, 237 bp; line 8,9,10 genotype GH/AA – 801 bp)

Frekuensi Allel GH/Eco721 dapat dilihat pada table 4.7 berikut

Table 4.7. Frekuensi Allel *GH/Eco721*

		Numbers of genotypes						HWE
		Observed			Expected			P
		GH/GG	GH/GA	GH/AA	GH/GG	GH/GA	GH/AA	Value
Pitalah duck	Male	91(0.91)	6 (0.06)	3 (0.03)	88.36 (0.88)	11.28 (0.11)	0.36 (0.01)	0,94
	Female	40 (0.89)	4 (0.09)	1 (0.02)	38.93 (0.90)	2.93 (0.07)	0.22 (0.03)	0.60
	Both	131 (0.90)	10 (0.07)	4 (0.03)	128.12 (0.88)	16.36 (0.11)	0.52 (0.01)	0.70
Kumbang Janti duck	Male	38 (0.84)	5 (0.11)	2 (0.04)	36.45 (0.81)	8.1 (0.18)	0.45 (0.01)	0.57
	Female	30 (0.86)	3 (0.09)	2 (0.06)	28.35 (0.81)	6.3 (0.18)	0.35 (0.01)	0.56
	Both	68 (0.85)	8 (0.10)	4 (0.05)	64.8 (0.81)	14.4 (0.18)	0.8 (0.01)	0.92

Tabel 4.9. Hubungan *GH/Eco721* dengan berat badan itik Pitalah

Genotype	Body Weight at age (week)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
GH/GG	46,60 ± 4.33	106.30 ± 20.71	190.5 ±60.4	320.4 ±125.9	492.50 ±150.1	655.5 ±125.5	728.5 ±150.1	800.5 ±167.1
GH/GA	46.44 ± 4.17	105.92, ± 20.54	170.5 ±65.4	300.5 ±120.5	415.23 ±120.2	525.3 ±100.5	600.2 ±120.2	650.4 ±129.1
GH/AA	46.50 ± 4.71	106.01 ±20.01	180.4 ±64.2	305.9 ±110.5	430.5 ±100.9	550.4 ±103.2	650.7± 122.4	700.9± 104.5
P value	Ns	Ns	ns	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01

Dari hasil analisa statistic terdapat hubungan yang tidak nyata sangat nyata antara keragaman dengan berat badan itik Pitalah umur 1 hari sampai 3 minggu. Sedangkan pada umur 4 samapi 8 minggu terdapat huungan yang sangat nyata antara keragaman *GH/Eco721* dengan berat badan itik Pitalah. Hasil ini mengindikasikan *GH/Eco721* adalah suatu marka yang bisa

digunakan dalam menyeleksi itik Pitalah dimana individu GH/GG memberikan berat badan tertinggi. Hasil yang sama juga diperoleh pada itik Kumbang janti, dimana terdapat hubungan yang sangat nyata antara keragaman GH/Eco721 dengan bobot badan itik umur 5, 6, 7 dan 8 minggu (Tabel 4.10).

Tabel 4.10. Association of GH gene polymorphism in 1 exon with body weight at age 1 – 8 week in Kumbang Janti Duck

Genotype	Body Weight (gram) at age (week)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
GH/GG	55.55 ± 3.93	115.70 ± 22.69	195.5 ± 63.5	319.3 ± 115.8	450.4 ± 140.2	740.5 ± 180.5	770.5 ± 145.2	810.9 ± 161.1
GH/GA	53.44 ± 4.27	105.88, ± 21.64	175.5 ± 64.3	305.5 ± 121.5	400.3 ± 120.2	600.5 ± 100.5	650.2 ± 122.2	670.4 ± 129.1
GH/AA	54.50 ± 4.81	108.01 ± 20.01	182.4 ± 63.5	308.9 ± 121.6	410.5 ± 105.9	610.4 ± 103.2	650.9± 109.4	705.9± 104.5
P value	Ns	Ns	Ns	Ns	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01

Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat dikemukakan kesimpulan sebagai berikut:

1. Itik Pitalah dan kumbang janti mempunyai keragaman gen GH yang tinggi dimana ditemukan 20 mutasi yang sebagian belum ditemukan pada itik lain
2. Iti Pitalah dan Itik Kumbang janti juga mempunyai keragaman gen GHR yang tinggi dimana ditemukan 13 keragaman dan 2 insersi
3. Dibandingkan dengan sekuen yang ada di NCBI gen bank diperoleh kesamaan dengan sekuen Iti Pitalah dan Itik Kumbang janti antara 96 – 99 %.
4. Iti Pitalah dan Itik Kumbang janti mempunyai keragaman berat badan dan dan pertambahan berat badan sangat tinggi sehingga berpeluang untuk diperbaiki melalui seleksi
5. Terdapat hubungan yang sangat nyata antara keragaman GH/Eco721 dengan bobot badan itik umur 5, 6, 7, 7 dan 8 minggu sehingga dapat digunakan sebagai marka molekuler dalam seleksi itik

Saran

1. Dengan keragaman berat badan dan pertambahan berat badan yang cukup tinggi Iti Pitalah dan Itik Kumbang janti sangat mungkin ditingkatkan mutu genetiknya sehingga dihasilkan Iti Pitalah dan Itik Kumbang janti yang lebih efisien dibandingkan dengan yang ada saat ini.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan yang mengarah pada hubungan keragaman gen GH dan GHR yang polimorfik dengan performance Iti Pitalah dan Itik Kumbang janti. Disamping itu, perlu pula dilakukan penelitian eksplorasi terhadap gen fungsional lainnya (IGF1, IGF2, dll) dan kaitannya dengan performanse Iti Pitalah dan Itik Kumbang janti.

DAFTAR PUSTAKA

- Bollano, E., E. Omerovic., M. Bohlooly-y., V. Kujacic., B. Madhu., J. Tornell., O. Isaksson., B. Soussi., W. Schulze., M. L. X. Fu., G. Matejka., F. Waagstein., and J. Isgaard. 2000. Impairment of cardiac function and bioenergetics in adult transgenic mice overexpressing the bovine growth hormone. *Endocrinology* 141:2229–2235.
- Eleswarapu, S., and H Jiang. 2005. Growth hormone regulates the expression of hepatocyte nuclear factor-3 gamma and other liver-enriched transcription factors in the bovine liver. *Journal of Endocrinology* (2005) 184, 95–105.
- Etherton, T.D., and D.E. Bauman. 1998. Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. *Physical Rev.*, 78: 745-61.
- Feng XP, Kuhnlein U, Aggrey SE, Gavora JS and Zadworny D. Trait association of genetic markers in the growth hormone and the growth hormone receptor gene in a White Leghorn strain. *Poultry Science*, 76: 1770-1775. 1997.
- Frohman L.A. 1995. Diseases of the anterior pituitary, in *endocrinology and metabolism*, . Ed.. McGraw Hill, Inc.
- Ge, W., M. E. Davis., H. C. Hines., K. M. Irvin., and R. C. M. Simmen, 2003. Association of single nucleotide polymorphisms in the growth hormone and growth hormone receptor genes with blood serum insulin-like growth factor I concentration and growth traits in Angus cattle. *J. Anim. Sci.* 81:641–648
- Guyton, A.C., and J.E. Hall. 1996. *Textbook of medical physiology*. 9 Ed. W.F. Saunders Company.
- Harvey, S, C.G. Scanes., and W.H. Daughaday. 1995 *Growth Hormone*. Boca Raton: CRC Press
- Hiyama, G., H. Okabayashi, N. Kansaku and K. Tanaka., 2012. Genetic Variation in the Growth Hormone Promoter Region of *Anas platyrhynchos*, a Duck Native to Myanmar. *J. Poult. Sci.*, 49: 245-248.
- Husmaini 2000. Pengaruh peningkatan level protein dan energy ransum saat refeeding terhadap performans ayam buras. *Jurnal Peternakan dan Lingkungan* 6 : 32 -37
- Husmaini, Aritonang dan Madarisa. 2012. Pengembangan Usaha Itik Lokal Sumber Daya Genetik Sumatera Barat (Itik Pitalah Dan Itik Bayang) Yang Bebas Flu Burung Dengan Pakan Probiotik Untuk Menghasilkan Bibit, Telur Dan Daging Yang Rendah Kolesterol Di Kabupaten Tanah Datar. Laporan Kegiatan Iptekda LIPI. Tahun Anggaran 2012. Fakultas Peternakan Univ Andalas, Padang.
- Johannsson, G., Y. B. Sverrisdottir., L. Ellegard., P.-A. Lundberg., and H. Herlitz. 2002. GH increases extracellular volume by stimulating sodium reabsorption in the distal nephron and preventing pressure naturiesis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87:1743–1749
- Kansaku N, Nakada A, Okabayashi H, Guémené D, Kühnlein U and Zadworny D. DNA polymorphism in the chicken growth hormone gene: association with egg production. *Animal Science Journal*, 74: 243-244. 2003.
- Kansaku N, Ohkubo T, Okabayashi H, Guémené D, Kühnlein U, Zadworny D and Shimada K. Cloning of duck PRL cDNA and Genomic DNA. *General and Comparative Endocrinology*, 141: 39-47. 2005.
- Kansaku N, Soma A, Furukawa S, Hiyama G, Okabayashi H, Guémené D, Kühnlein U and Zadworny D. Sequence of the domestic duck (*Anas platyrhynchos*) growth hormone-

- encoding gene and genetic variation in the promoter region. *Animal Science Journal*, 179: 163-170. 2008.
- Kühnlein U, Ni L, Welgend S, Gavora JS, Fairfull W and Zadworny D. DNA polymorphisms in the chicken growth hormone gene: response to selection for disease resistance and association with egg production. *Animal Genetics*, 28: 118-123. 1997.
- Lemmey, A.B., J. Glassford., H.C. Flick-Smith., J.M. Holly., and J.M. Pell. 1997. Differential regulation of tissue insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP)-3, IGF-I and IGF type 1 receptor mRNA levels, and serum IGF-I and IGFBP concentrations by growth hormone and IGF-I. *Journal of Endocrinology* 154 319-328
- Murray, R.K., D.K. Granner., P.A. Mayer. 1996. *Harper's biochemistry*, 24 Ed. Prentice-Hall Internasional Inc.
- Nagaraja SC, Aggrey SE, Yao J, Zadworny D, Fairfull RW and Kuhnlein U. Trait association of a genetic marker near the IGFI gene in egg-laying chickens. *Journal of Heredity*, 91: 150-156. 2000.
- Park, H.B. 2004. Genetic analysis of Quantitative Traits Using Domestic Animals: A Candidate Gen and Genome Scanning Approach Dissertation Uppsala University. Sweden
- Seneviratne C., J.M. Luo., and L.J. Murphy. 1990. Transcriptional regulation of rat insulin-like growth factor-binding protein-1 expression by growth hormone. *Molecular Endocrinology* 4 1199-120
- Tollet-Egnell, P., A. Flores-Morales., A. Stavreus-Evers., L. Sahlin., and G. Norstedt. 1999. Growth hormone regulation of SOCS-2, SOCS-3, and CIS messenger ribonucleic acid expression in the rat. *Endocrinology* 140 3693-3704
- Valera, A., J.E. Rodriguez-Gil., J.S. Yun., M.M. McGrane., R.W. Hanson., and F. Bosch. 1993. Glucose metabolism in transgenic mice containing a chimeric P-enolpyruvate carboxykinase/bovine growth hormone gene. *FASEB Journal* 7 791-800.
- Yoon, J.B., S.A. Berry., S. Seelig., and H.C. Towle. 1990. An inducible nuclear factor binds to a growth hormone-regulated gene. *Journal of Biological Chemistry* 265 19947-19954
- Zhao, Q., M. E. Davis., and H. C. Hines. 2004. Associations of polymorphisms in the Pit-1 gen with growth and carcass traits in Angus beef cattle. *J. Anim. Sci.* 82:2229-2233